

玉米秸秆田间原位腐解菌剂研制及功能验证

徐杰, 王泽懿, 刘文越, 狄鲁滨, 黄雨阳 (东北农业大学资源与环境学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要 以玉米农田土壤为筛选样本, 以玉米秸秆为筛选碳源, 通过多重筛选试验组合, 成功构建一组高效降解纤维素的复合型菌剂 Y8, 并进行室内摇瓶试验、室外对比性坑试, 从实际应用的角度探讨菌剂 Y8 的降解能力。经菌落和菌体形态观察及生理生化初步鉴定, 这 8 株纤维素降解菌株均属于芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)。在摇瓶试验中, 该菌剂对玉米秸秆的降解率达 44.70%; 田间试验中菌剂对秸秆的降解率可达 60% 以上。研究结果表明, 菌剂 Y8 可明显提高玉米秸秆田间原位腐解效率, 并在一定程度上抑制植物病原菌的生长。

关键词 复合型菌剂; 原位腐解; 酶解活力; 玉米秸秆; 研制; 功能验证

中图分类号 S141.4

文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)13-0074-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.13.019

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Development and Functional Verification of in-situ Decomposing Agent for Corn Stalk in the Field

XU Jie, WANG Ze-yi, LIU Wen-yue et al (College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract Taking corn farmland soil as the screening sample and corn straw as the carbon source, through multiple screening experiments, a group of compound bacterifier Y8 with high efficiency for cellulose degradation was successfully constructed. The indoor shaking bottle experiment and outdoor comparative pits were conducted to explore the degradation capacity of bacterifier Y8 from the perspective of practical application. The morphological observation and physiological and biochemical identification of the colonies and bacteria showed that all the 8 cellulose degrading strains belonged to *Bacillus* sp.. In the flask shaking experiment, the degradation rate of the bacterial agent to corn straw was 44.70%. In the field experiment, the degradation rate of bacterial agent to straw could reach more than 60%. The research results showed that the fungus Y8 could significantly improve the efficiency of corn stalk decomposing in situ in the field, and inhibit the growth of plant pathogenic bacteria to a certain extent.

Key words Compound bacteria agent; Decomposing in situ; Enzyme activity; Corn straw; Development; Functional verification

玉米是东北地区种植面积最大的粮食作物, 据统计, 2018 年黑龙江省玉米播种面积为 631.7 万 hm^2 ^[1]。如此大量的玉米种植面积必然会导致收割后产生的玉米秸秆难以有效处理利用^[2]。虽然秸秆作为可以直接利用的可再生资源, 但目前最多的处理方式仍然是直接田间焚烧。秸秆焚烧加剧了空气污染, 促使了“复合型雾霾”频发, 浪费了秸秆中大量的有机营养物质^[3-4]。为了减少此现象的发生, 目前政府大力提倡将秸秆直接还田, 但由于秸秆中含有大量的木质纤维素类物质, 导致其自然腐解效率低, 严重影响播种效果。该研究所研制的菌剂旨在提高玉米秸秆的田间原位腐解效率, 同时降低玉米常见病害的感染率, 改善土壤肥力, 缓解秸秆焚烧带来的环境生态压力。

利用微生物本身或其代谢产物降解秸秆受到了学术界广泛的关注, 目前对放线菌和真菌的筛选及研究较多^[5]。王洪媛等^[6]经过富集筛选、检测等一系列手段得到 3 株具有较强降解纤维素能力的真菌菌株; 李文哲等^[7]从腐烂的木材中分离出了 4 株纤维素分解真菌。国内用于处理秸秆等富含木质纤维素成分的物质时, 大多应用真菌类菌剂尤其是以木霉属和曲霉属制得的菌剂为主。然而, 真菌生长受水分严格限制, 干燥条件下真菌的降解能力会明显减弱^[5]。相反, 细菌生长条件不同于真菌一般严格, 且具有芽孢的细菌一般抗逆性较强, 可在不良的环境条件下生长^[8]。细菌中也不乏存在一些具有高效降解纤维素类物质能力的菌株, 然而, 对以细菌为主体纤维素降解菌剂报道相对较少。该研究利用富

含纤维素降解菌的田间土壤对其进行富集处理及驯化培养, 通过一系列生理生化检测获得具有高效降解能力的细菌菌株, 并将其复配成菌剂, 以摇瓶试验、田间坑试等方式对该复合菌剂进行功能验证。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 土样、试验用秸秆。土壤样品采集自黑龙江省哈尔滨市郊区枯枝落叶覆盖较多的土壤、田间堆放玉米秸秆及种植玉米的土壤, 表层土下 5 cm 处取样, 4℃ 冰箱保存备用。试验使用的玉米秸秆收集于大田, 长度为 15~20 cm。

1.1.2 培养基。富集培养基: 蛋白胨 5 g、牛肉膏 2.5 g、NaCl 2.5 g、秸秆粉 20 g、琼脂 20 g、去离子水 1 000 mL。纯化分离培养基: 牛肉膏 5 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、琼脂 20 g、去离子水 1 000 mL。纤维素降解菌筛选培养基: CMC-Na 15 g、 NH_4NO_3 1 g、 MgSO_4 0.5 g、 KH_2PO_4 1 g、酵母膏 1 g、琼脂 20 g、去离子水 1 000 mL。产酶培养基: MgSO_4 0.3 g、 FeCl_3 0.01 g、NaCl 0.1 g、 KH_2PO_4 1 g、 NaNO_3 2.5 g、 CaCl_2 0.1 g、秸秆粉 20 g、蛋白胨 1 g、去离子水 1 000 mL。

1.1.3 植物病原菌。用于抑菌试验的植物病原菌包括玉米大斑病病原菌大斑病凸脐蠕孢菌 [*Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard et Suggs]、玉米鞘腐病病原菌尖孢镰孢菌 (*F. oxysporum*)。

1.1.4 摇瓶试验所用市售菌剂。农富康秸秆发酵剂(河南农富康生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌株的富集与初筛。称取 5 g 土壤样品加入富集培养基中, 30℃、160 r/min 的条件下进行反复多代驯化富集培

作者简介 徐杰(1978—), 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 讲师, 博士, 从事固体废物废弃物的微生物降解利用研究。

收稿日期 2020-10-19

养。将土壤悬液进行浓度梯度稀释并涂布于 CMC-Na 培养基,观察菌落周围透明圈的有无及大小,保留透明圈较大的菌株,三区划线纯化并保存。

1.2.2 菌株 CMC/天然纤维素酶活力测定。将初筛所得菌株制成种子液,并按 2.5%的比例分别接入产酶发酵培养基中,30 ℃、160 r/min 振荡培养,每隔 24 h 取培养液,采用 3,5-二硝基水杨酸法(DNS)^[8]分别测定菌株 CMC、天然纤维素酶活力。

1.2.3 菌株抑菌性检测。将植物病原菌接种至 PDA 培养基一侧,待真菌菌丝蔓延至培养基 50%时,将所得菌株分别接种于病原菌菌落 1.0~1.5 cm 处,观察细菌对病原菌生长抑制情况。

1.2.4 菌种鉴定。采用革兰氏染色法^[9]、芽孢染色法^[10]等对各功能菌株进行形态学、生理生化鉴定。

1.2.5 复合菌剂的构建。

1.2.5.1 拮抗试验。将菌株两两组合并在基础性培养基平板上交叉划线,37 ℃温箱培养 24 h,观察菌体交叉处菌株的生长情况,若生长良好则说明两菌株之间不存在拮抗作用。

1.2.5.2 液体菌剂的制备及絮凝。将 40 mL 的种子液接入发酵培养基中,37 ℃、400 r/min 的条件下扩大培养 48 h。参考文献[11]进行发酵液絮凝处理并对絮凝后的物质进行刚果红检测。

1.2.6 复合菌剂的功能验证。

1.2.6.1 室内摇瓶试验。称取复合菌剂、市售菌剂各 0.5 g,加入 150 mL 蒸馏水使其溶解,并与 20 g 玉米秸秆混合于 200 mL 锥形瓶中,在 30 ℃、160 r/min 的条件下振荡培养。在摇瓶培养第 10 天、第 20 天、第 25 天、第 30 天、第 40 天分别取样,清洗,烘干,称重。

1.2.6.2 室外田间试验。进行对比性室外坑试,分阶段观察秸秆形态变化。按表 1 中所示的用量将试剂加入高 20 cm、长 40 cm 的土坑中,并覆土处理。在第 30 天、第 45 天、第 60 天分别测定土壤温度、玉米秸秆干重,试验于夏季 5—7 月进行。

表 1 室外坑试试剂用量
Table 1 Outdoor pit reagent dosage

处理 Treat- ment	100 g 玉米 秸秆 100 g corn stalks	1 000 mL 水 1 000 mL water	1 000 mL 营养液 1 000 mL nutrient solution	菌剂 Fungicide
①	+	-	-	-
②	+	-	-	+
③	+	+	+	+
④	+	+	-	-
⑤	+	-	+	+
⑥	+	+	-	+

注: * 营养液为碳酸氢铵、硫酸钾、过磷酸钙按 1:1:1 的比例配制,浓度为 1 mol/L
Note: * the nutrient solution is made up of ammonium bicarbonate, potassium sulfate and superphosphate in a ratio of 1:1:1, with a concentration of 1 mol/L

其中,处理①,空白对照,只加入 100 g 玉米秸秆,其他试剂均不添加;处理②,在土坑中加入 100 g 玉米秸秆及所研制腐解菌剂 10 g;处理③,加入 100 g 玉米秸秆、10 g 所研制菌

剂并添加营养液、水各 1 000 mL;处理④,加入 100 g 玉米秸秆、1 000 mL 水;处理⑤,加入 100 g 玉米秸秆、10 g 所研制菌剂、1 000 mL 营养液;处理⑥,加入 100 g 玉米秸秆、10 g 所研制菌剂、1 000 mL 水。

2 结果与分析

2.1 菌株初筛结果 采用刚果红染色法对富集所得菌株进行初筛,初步获得具有纤维素降解能力的菌株 17 株。结果见表 2。

表 2 初筛结果
Table 2 Preliminary results

菌株编号 Strain number	透明圈直径 Diameter of transparent circle(D)//cm	菌落直径 Colony diameter (d)//cm	D/d 值 D/d value
D10-1	3.60	1.10	3.27
BH5	2.60	1.60	1.60
A2	3.40	4.50	1.54
E4	3.40	1.50	2.20
D4-1	3.10	2.20	1.57
37-3	2.10	1.80	1.16
C631	1.20	0.80	1.50
A422	3.20	2.40	1.30
A531	3.10	1.60	2.30
D2-1	1.30	1.20	1.08
B622	2.30	1.80	1.27
50-15	3.60	0.70	3.70
50-5	3.10	2.90	1.07
木 13	4.10	2.90	1.41
YD-1	2.10	2.30	1.56
P3	3.50	1.70	2.06
P1	3.70	1.60	2.31

研究表明,在某种程度上菌株透明圈直径(D)与菌落直径(d)比值的大小能够代表菌株纤维素降解能力强弱,比值越大,纤维素降解能力越强^[12]。如图 1 所示,菌株 D10-1、菌株 50-15 的透明圈基本将整个培养基覆盖,D/d 值分别达 3.27、3.70,说明 2 个菌株在菌落较小时仍可形成较大直径的透明圈,具有较强分解羧甲基纤维素的能力。为进一步评估初筛所得菌株纤维素降解能力,对这 17 株菌株进行 CMC 酶活力、天然纤维素酶活力检测。

2.2 CMC 酶活力、天然纤维素酶活力测定 刚果红染色法可以对菌株是否具有纤维素降解能力进行定性分析,不能保证筛选所得菌株在实际应用中具有良好的降解玉米秸秆能力^[13]。为确保所筛选菌株降解的实际能力对菌株进行定量分析,根据定性及定量结果综合分析,挑选最适、分解能力最强的菌株。

通过对酶活力的测定数据(表 3)及水解圈直径大小(表 2)进行分析,选择其中 8 株具有较高活性菌株,分别为菌株 D10-1、YD-1、50-15、BH5、A422、P3、P1、木 13。

2.3 抑菌性检测 大斑病凸脐蠕孢菌、尖孢镰孢菌是导致玉米大斑病、玉米鞘腐病发生的主要病原菌,可造成玉米产量下降^[14]。因此,对病原菌的防治是必要的。研究所筛选

菌株对 2 株病原菌的生长抑制能力,结果如图 2 所示,病原真菌在菌株 YD-1 的菌落周围生长缓慢或停止生长,此现象表明菌株 YD-1 可明显抑制玉米大斑病、玉米鞘腐病等玉米

易感病原菌的生长。这些具有良好抑菌效果的菌株在高效降解玉米秸秆的同时又可为玉米的栽种提供良好的生长条件,改善土壤环境。

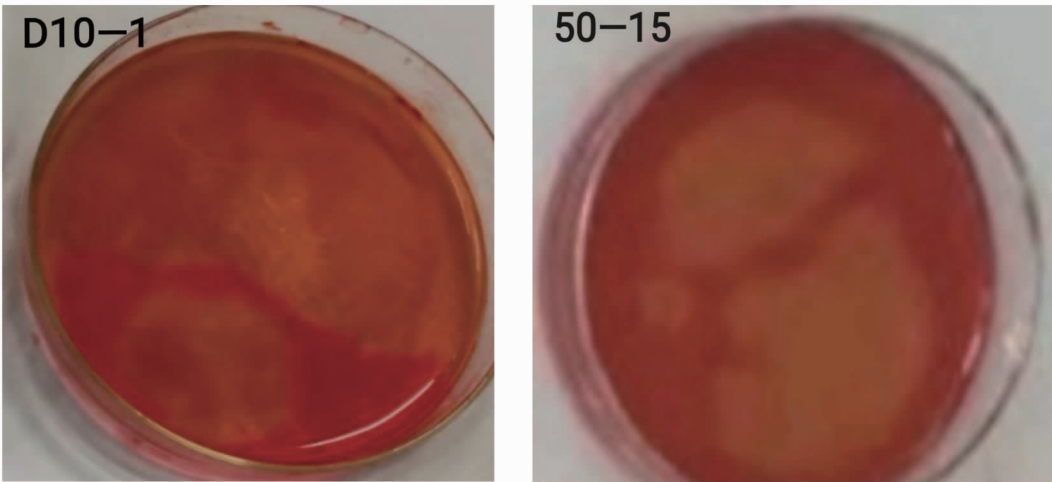


图 1 菌株 D10-1、50-15 刚果红染色结果

Fig. 1 Staining results of strain D10-1 and 50-15 congo red

表 3 酶活力测定结果

Table 3 Determination results of enzyme activity			U/mL
菌株 Strain	CMC 酶活 CMC enzyme activity	天然纤维素酶活 Natural cellulase activity	
D10-1	2.547	49.64	
BH5	1.005	71.05	
50-15	1.945	40.11	
B622	0.882	54.14	
A2	0.905	53.42	
E4	1.082	42.45	
D4-1	1.059	49.64	
YD-1	2.673	56.45	
P1	0.989	67.34	
37-3	1.911	50.72	
C631	1.556	49.50	
A422	1.306	61.34	
A531	1.266	32.01	
D2-1	0.622	52.34	
50-5	1.105	42.63	
木 13	0.998	55.67	
P3	0.921	60.16	

2.4 菌株鉴定 通过菌落形态特征、生理生化特征观察对 8 株纤维素降解菌株进行鉴定,为进一步研究和利用所筛选菌株提供试验基础和理论依据。经菌落和菌体形态观察及生理生化初步鉴定(表 4~5),8 株纤维素降解菌株均属于芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)。

芽孢是决定菌株抗逆性的关键因素,也是衡量菌株能否适应自然环境的重要指标^[15]。由表 5 和图 3 可知,筛选到的 8 株细菌都存在芽孢这一特殊结构,具有一定抵抗不良环境的能力。

2.5 复合菌剂的制备及功能验证

2.5.1 拮抗试验及菌剂复配。菌株间是否具有拮抗作用是实现菌株复配的前提,将不具有拮抗作用的菌株进行组合,才能使菌剂发挥最大效果。从拮抗试验结果(表 6)可以看出,只有菌株 P1 和菌株 A422 间表现为轻微的拮抗作用,其余不存在拮抗关系,可利用这 8 株菌株进行复合菌剂构建,实现降解效果最大化。

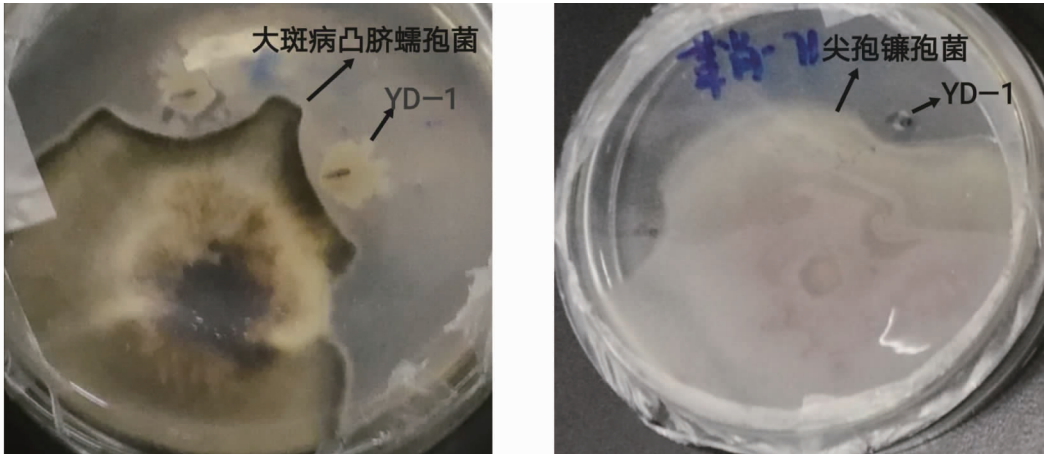


图 2 菌株 YD-1 抑菌性检测

Fig. 2 Bacterial inhibition of YD-1 strain

表 4 8 株细菌的平板菌落形态

Table 4 Plate colony morphology of 8 strains of bacteria

菌株编号 Strain number	形状 Shape	大小 Size	颜色 Color	光泽 Gloss	隆起程度 Degree of uplift	黏稠 Viscous	透明 Transparent	边缘 Edge
D10-1	圆形	较大	浅黄	有	拱起	否	不	整齐
YD-1	不规则	较大	乳白	有	不	是	半透明	叶状
50-15	圆形	较小	浅黄	无	不	是	不	整齐
BH5	不规则	较小	浅黄	无	拱起	否	半透明	叶状
A422	圆形	较大	乳白	无	拱起	否	不	波状
P3	不规则	较大	浅黄	无	拱起	否	不	波状
P1	圆形	较小	乳白	有	拱起	否	半透明	叶状
木 13	圆形	较大	乳白	有	不	是	半透明	叶状

表 5 8 株细菌的菌体形态及生理生化特性

Table 5 Morphology, physiological and biochemical characteristics of 8 strains of bacteria

菌株编号 Strain number	菌体形态 Bacteria form	鞭毛染色 Flagella staining	芽孢染色 Spore staining	革兰氏染色 Gram stain	过氧化氢酶试验 Catalase test	V-P 试验 V-P test	需氧性试验 Aerobic test	运动性试验 Motility test	硝酸盐还原试验 Nitrate reduction test
D10-1	杆状	数根	+	+	+	+	好氧	+	+
YD-1	杆状	数根	+	-	+	+	好氧	+	-
50-15	杆状	无	+	+	+	+	微好氧	-	+
BH5	杆状	数根	+	+	-	+	好氧	+	+
A422	杆状	数根	+	+	+	-	好氧	+	+
P3	杆状	数根	+	+	+	+	好氧	+	-
P1	杆状	无	+	+	+	+	好氧	-	+
木 13	杆状	数根	+	-	+	+	好氧	+	+

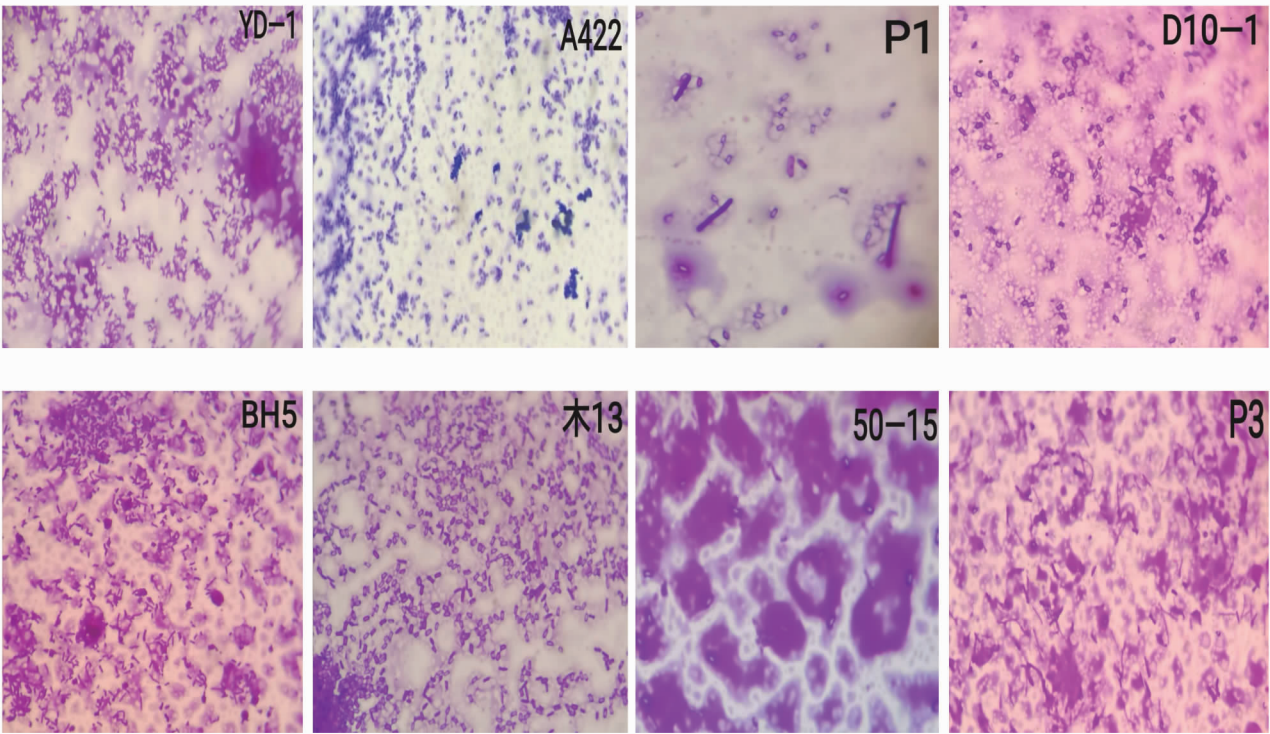


图 3 菌株芽孢染色结果

Fig.3 Spore staining results of strain

取相同体积 8 株菌株的发酵液与灭菌麸皮以 1:1 比例混 合,发酵 48 h 后晾干,制成固体菌剂,并命名为 Y8。

2.5.2 室内摇瓶试验。为检验所得复合菌剂 Y8 对玉米秸秆的实际降解效果,进行室内秸秆降解摇瓶试验。从图 4 可以看出,经 40 d 摇瓶培养后,添加复合菌剂 Y8、市售菌剂农富康处理的秸秆降解率分别为 44.70%、37.75%,而对照处理的秸秆降解率仅为 28.25%,说明添加降解菌剂可提高秸秆的分解速率。同时,利用菌剂 Y8 进行处理的秸秆分解效果优于以市售菌剂进行处理的效果,此试验结果表明所研制的复合型菌剂降解能力强于市售菌剂,降解效果最为明显。

表 6 拮抗试验结果
Table 6 Experimental results of antagonism

菌株编号 Strain number	50-15	D10-1	BH5	A422	P3	P1	木 13	YD-1
50-15		-	-	-	-	-	-	-
D10-1	-		-	-	-	-	-	-
BH5	-	-		-	-	-	-	-
A422	-	-	-		-	+	-	-
P3	-	-	-	-		-	-	-
P1	-	-	-	+	-		-	-
木 13	-	-	-	-	-	-		-
YD-1	-	-	-	-	-	-	-	

注:“+”表示菌株间有拮抗作用,“-”表示菌株间无拮抗作用
Note:“+” means there is antagonism between strains,“-” means there is no antagonism between strains

2.5.3 田间坑试。室外的条件多变且充满不确定性,菌株能否正常定植生长、降解能力是否稳定,都是需要考虑的因素。从 30 d 后田间坑试结果(图 5)可以看出,处理 1 为仅加入秸秆不做任何处理的样品,30 d 后秸秆基本没有发生变化;处理 2 为只加入菌剂的样品,由于降雨等因素的影响,含水量相对充足,30 d 后秸秆降解率达到 50%;处理 3 为加入菌剂并用水和营养液混合处理的样品,30 d 后土质疏松、含水量较足、玉米秸秆在复合菌剂及土著微生物的共同作用下降解率可达 60%以上。上述结果表明,所研制的复合菌剂在人为干预下降解效果可进一步增强,即使无人为干预下仍可对秸秆的降解产生帮助。



图 5 30 d 后田间坑试结果对比
Fig. 5 Comparison of field and pit test results after 30 days

4 结论

(1) 以枯枝落叶覆盖较多的土壤、田间堆放玉米秸秆及

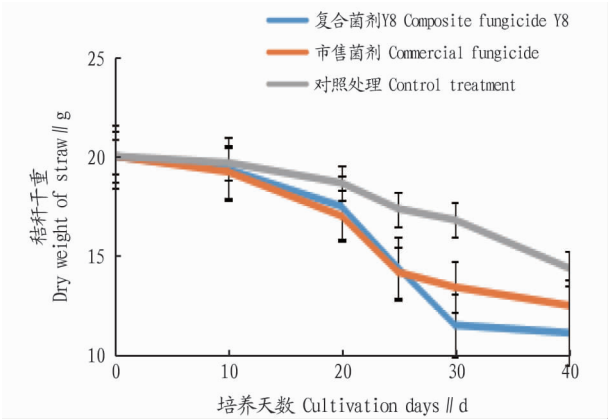


图 4 秸秆降解摇瓶试验结果
Fig. 4 Results of flask degradation experiment

3 讨论

研究表明,单一菌株制成的菌剂其降解玉米秸秆的效果并不理想^[16-19]。因此,需要构建具有纤维素降解能力的多种菌株的组合,而筛选出合适的菌株是构建复合菌剂的关键。目前文献中提及的复合型菌系绝大多数以真菌为主,细菌、放线菌的应用较少^[20]。该研究以玉米农田的土壤为菌种筛选来源,通过富集培养、刚果红染色等方式进行纤维素降解菌的初步筛选,测定多种纤维素酶活力确定高效降解菌株,通过抑菌性等试验丰富菌株功能,最终选择了 8 株细菌作为构建复合菌剂的菌种,并以拮抗试验为基础进行了复合菌剂的制作,通过室内摇瓶试验、田间坑试,综合评价复合菌剂的实际降解能力,为东北地区实现秸秆的高效处置提供微生物利用基础。

试验过程中进行了菌株对植物病原菌的抑菌性检测,发现所选用的 8 株菌株中菌株 YD-1 对玉米大斑病、玉米鞘腐病病原菌的生长表现为明显的抑制作用。当在 PDA 培养基中接入病原菌并培养 7 d 左右,病原菌菌丝可蔓延至平板 1/2 处,但当接入细菌,培养 1~2 d 后便可发生明显的抑制现象,表明所选用的菌株对底物的适应性较强,生长速度较快,符合实际生产所需。

种植玉米的土壤为筛选菌种来源,通过多重筛选试验,得到具有较强木质纤维素降解能力的 8 株细菌,分别为菌株

D10-1、YD-1、50-15、BH5、A422、P3、P1、木 13,经菌落和菌体形态观察及生理生化初步鉴定,这 8 株纤维素降解菌株均属于芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)。

(2) 菌株 D10-1、YD-1 酶活力相对较高,分别可达 2.547、2.673 U/mL;菌株 YD-1 对玉米大斑病、玉米鞘腐病病原菌的生长表现为明显的抑制作用;8 株菌株彼此不存在明显拮抗作用,可将其复配成复合菌剂。

(3) 菌剂 Y8 的秸秆降解功能验证:室内摇瓶试验 40 d 秸秆降解率为 44.70%;田间坑试中菌剂 Y8 对秸秆的降解率可达 60%以上。

参考文献

[1] 李金霞,何长安,王海玲,等.黑龙江省玉米产业发展现状及展望[J].农业展望,2020,16(1):67-70.

[2] SUN M X,XU X B,WANG C D,et al. Environmental burdens of the comprehensive utilization of straw: Wheat straw utilization from a life-cycle perspective[J]. Journal of cleaner production,2020,259:1-12.

[3] 彭春艳,罗怀良,孔静.中国作物秸秆资源量估算与利用状况研究进展[J].中国农业资源与区划,2014,35(3):14-20.

[4] 陈浩,李小刚,周游,等.农作物秸秆还田资源化利用研究进展[J].湖南农业科学,2015(6):138-141.

[5] ZHUO F,ZHANG X F,LEI L L,et al. The effect of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar on the growth and Cd/Pb accumulation in *Zea mays* [J]. International journal of phytoremediation,2020,22(10):1009-1018.

[6] 王洪媛,范丙全.三株高效秸秆纤维素降解真菌的筛选及其降解效果[J].微生物学报,2010,50(7):870-875.

[7] 李文哲,朱巧银,范金霞,等.纤维素高效降解菌群构建及产酶底物优化[J].东北农业大学学报,2016,47(1):81-86.

[8] 于素素.低温玉米秸秆降解菌的筛选及其复合菌系产酶条件优化[D].

沈阳:沈阳农业大学,2019.

[9] 谭啸,章熙东.革兰氏染色法观察与区分细菌[J].生物学教学,2019,44(7):71-72.

[10] 陈静,沈善琦,赖晓芳,等.细菌芽孢染色方法的比较[J].科教文汇,2019(8):69-70,75.

[11] 曹哲统,李映,尹一鸣,等.3-羟基丙酸发酵液絮凝-脱色工艺研究[J].北京化工大学学报(自然科学版),2017,44(1):45-51.

[12] ZHANG H Y,DONG S R,LOU T T,et al. Complete genome sequence unveiled cellulose degradation enzymes and secondary metabolic potentials in *Streptomyces* sp. CC0208[J]. Journal of basic microbiology,2018,59(3):267-276.

[13] 尚婷婷,李全宏,邓尚贵.高效降解纤维素菌系的筛选分离及复合菌系的构建[J].中国农学通报,2014,30(31):254-260.

[14] 李新.鞘腐病发生程度与玉米倒伏及产量损失间的相关性分析[J].农业开发与装备,2018(4):102,105.

[15] RUSANEN A,LAPPALAINEN K,KÄRKKÄINEN J,et al. Selective hemi-cellulose hydrolysis of Scots pine sawdust[J]. Biomass conversion and biorefinery,2019,9(2):283-291.

[16] ZHENG G X,YIN T,LU Z X,et al. Degradation of rice straw at low temperature using a novel microbial consortium LTF-27 with efficient ability[J]. Bioresource technology,2020,304:1-4.

[17] OLOWOMOFE T O,BABALOLA T F,OLUYIDE O O,et al. Isolation, screening and molecular identification of cellulose-degrading bacteria from paper and pulp mill dumpsites[J]. Frontiers in environmental microbiology,2019,5(3):77-83.

[18] MARWA N,MISHRA N,SINGH N,et al. Effect of rhizospheric inoculation of isolated arsenic (As) tolerant strains on growth, As-uptake and bacterial communities in association with *Adiantum capillus-veneris* [J]. Ecotoxicology and environmental safety,2020,196:1-11.

[19] 宋德强,张雯婕,张玲,等.1株降解玉米秸秆放线菌的筛选[J].安徽农业科学,2016,44(9):16-18.

[20] 宋云皓,满都拉,邵晋楠,等.玉米秸秆纤维素降解菌的筛选及复合菌系的构建[J].饲料工业,2017,38(19):33-37.

(上接第 50 页)

部分幼苗死亡,可能浓度过高导致;多效唑能够控制幼苗长势,增加叶片中叶绿素含量,有矮化效果;尿素和 6-BA 对幼苗株高、株粗和叶绿素含量都有一定的促进作用;6-BA 促进侧枝的形成,验证了高浓度细胞分裂素能够促进根系生长的理论^[22]。抑制幼苗生长的主要原因是幼苗进入休眠期。胚培苗移栽后通过喷施 GA₃ 打破休眠,促进幼苗的生长,促进根茎部位及早木质化,提高抗性和移栽时的株高。综合考虑,GA₃ 对幼苗生长的促进效果最佳。

经过试验研究确定移苗及壮苗技术:移苗最佳苗龄是 10 d;基质选择椰糠:蛭石:珍珠岩=1:1:1 较好;苗期使用 800 倍稀释花多多高氮水溶肥,7~14 d 使用一次,当幼苗进入二次休眠时,使用 GA₃ (200 mg/L) 连续喷 2 次,间隔 7~10 d,可以有效打破休眠促进生长。

参考文献

[1] 庄恩及,姚强,吴钰良,等.桃胚培养技术系列研究获得成果[J].上海农业学报,1993,9(3):41.

[2] 曹致义,季唯,强维亚,等.葡萄试管苗在移栽过程中叶解剖和根系活力的变化[J].果树科学,1992(2):81-86.

[3] 潘学军,王跃进,张剑侠,等.葡萄胚挽救苗移栽技术的研究[J].西北植物学报,2004,24(6):1077-1082.

[4] 柏新富,张萍,蒋小满,等.一品红组培苗移栽期叶片生理与解剖变化[J].林业科学,2005,41(6):170-173.

[5] 李向龙,张中保,张春,等.转基因玉米试管苗移栽影响因素及栽培技术要点[J].安徽农业科学,2016,44(18):21-22.

[6] 张满让,韩明玉,王西玲,等.影响早熟油桃胚培养的几个因子[J].果

树学报,2004,21(4):382-384.

[7] 李婧艳.早熟梨组织培养再生体系建立的研究[D].阿拉尔:塔里木大学,2011.

[8] 董敬超.海尔特兹树莓组培苗温室驯化移栽技术研究[J].农业科技通讯,2015(7):138-140.

[9] 路凤珍,温晓敏,张娜,等.三倍体葡萄胚挽救苗驯化及移栽技术研究[J].天津农业科学,2016,22(10):92-95.

[10] 关海春,肖敏.早熟罐藏黄桃胚培养技术研究[J].辽宁农业科学,2009(2):65-66.

[11] 李敏,张健,李玉娟,等.3种叶面肥对迷迭香生长的影响[J].长江大学学报(自然科学版)农学卷,2010,7(3):27-28.

[12] 蒋晓梅,彭福田,张江红,等.肥料袋控缓释对桃树土壤酶活性及植株生长的影响[J].水土保持学报,2015,29(1):279-284.

[13] 张乐萍,王亚平,谭志勇,等.氮磷钾不同配比水溶肥对春石斛组培苗生长的影响[J].亚热带植物科学,2016,45(1):80-82.

[14] 丁雨霜,张磊,郭翔,等.不同施肥模式对朱顶红幼苗生长指标的影响[J].山西农业科学,2018,46(3):412-415,448.

[15] 闫田力,秦旭.不同处理对油桃休眠的影响[J].江苏农业科学,2008,36(4):144-147.

[16] 张立莎,李永红,王召元,等.桃芽休眠机理研究进展[J].中国果树,2016(6):63-68.

[17] 张桂芬,彭涛.植物生长调节剂 GA₃ 和 6-BA 对香椿实生苗生长的影响[J].甘肃农业科技,2006(1):10-11.

[18] 刘一灵,刘仁祥,李振华,等. GA₃ 和 6-BA 协同引发对烟草种子萌发和幼苗生长的影响[J].种子,2013,32(12):76-78.

[19] 张福平,魏玲玲. IAA 等对紫罗勒种子发芽及幼苗生长的影响[J].种子,2007,26(10):94-97.

[20] 郭延平,李嘉瑞.多效唑诱导猕猴桃试管苗生根的作用机理初探[J].园艺学报,1995,22(2):189-190.

[21] 刘静雅,李绍才,孙海龙,等.多效唑对紫穗槐生长及生理特性的影响[J].植物科学学报,2016,34(2):271-279.

[22] 武维华.植物生理学[M].北京:科学出版社,2003.